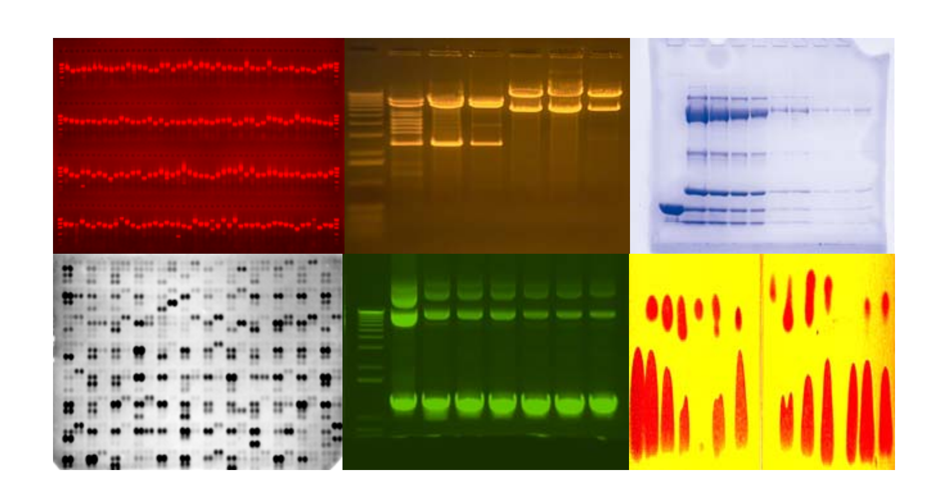
UVP VisionWorks Software

版本:5.5.3, 5.5.4

影像分析軟體

簡易中文操作說明書



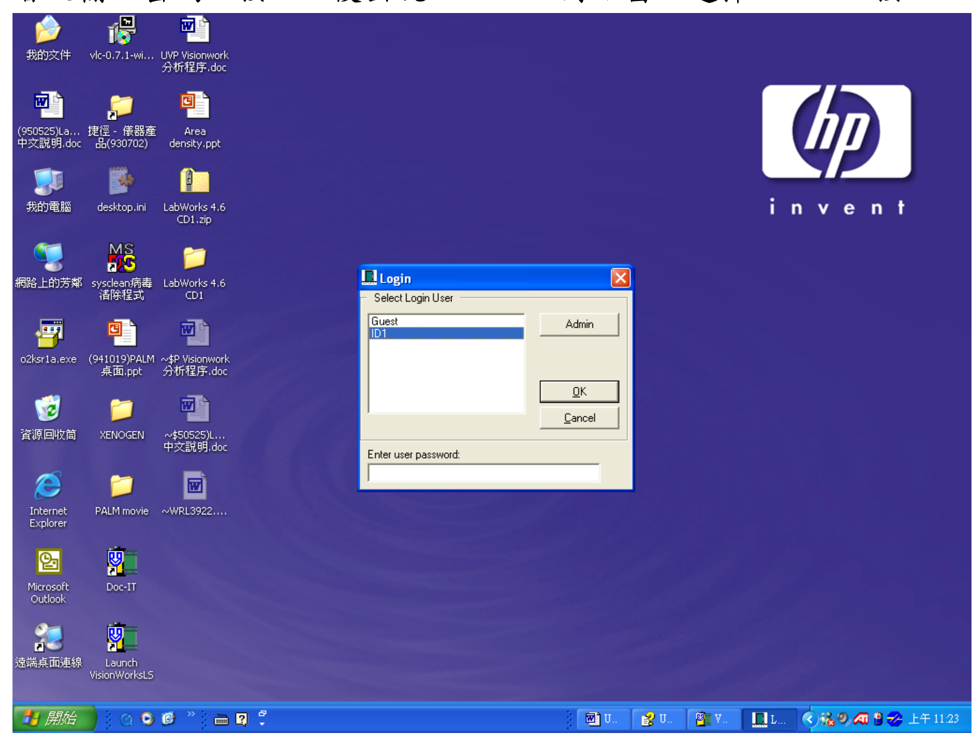
中華民國 95 年 5 月 26 日 完成

進階生物科技股份有限公司
進階生物醫學網 www.level.com.tw TEL:02-2695-9935 FAX:02-2695-0403

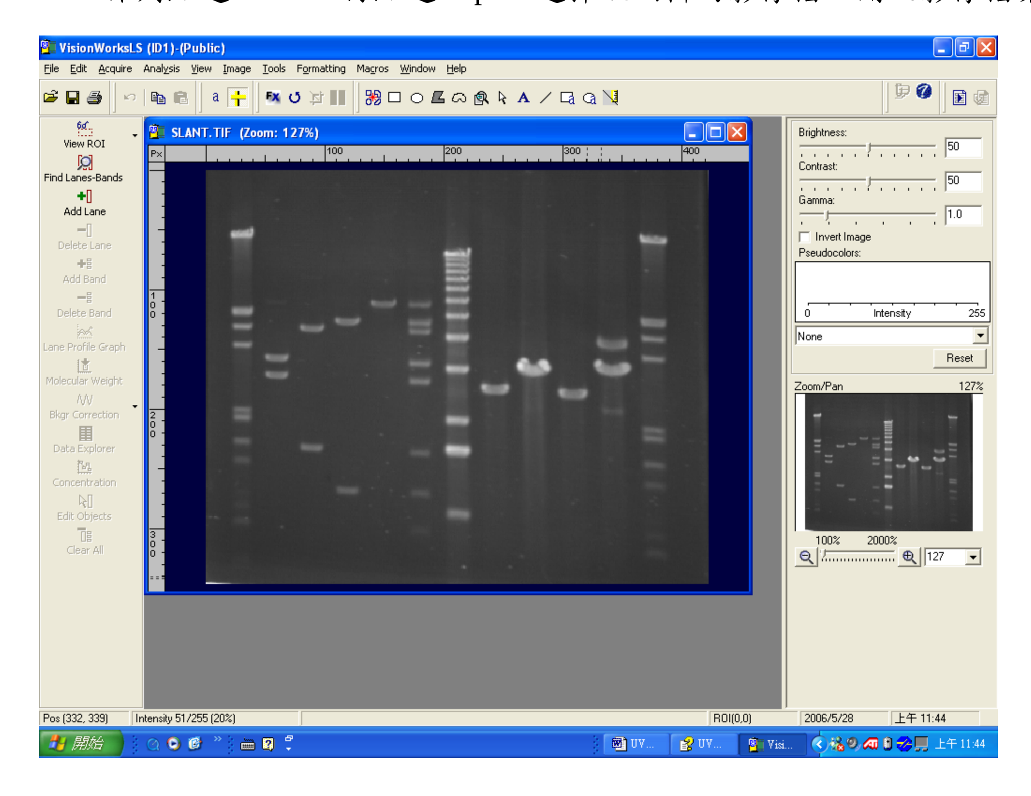
内　容

1. 載入影像檔案

a.首先開啟 Visionwork LS 軟體，出現”Login”對話窗（需設定使用者及其權限），選擇使用者及輸入密碼，按 OK 後出現”Profile” 對話窗，選擇 Public，按 OK。

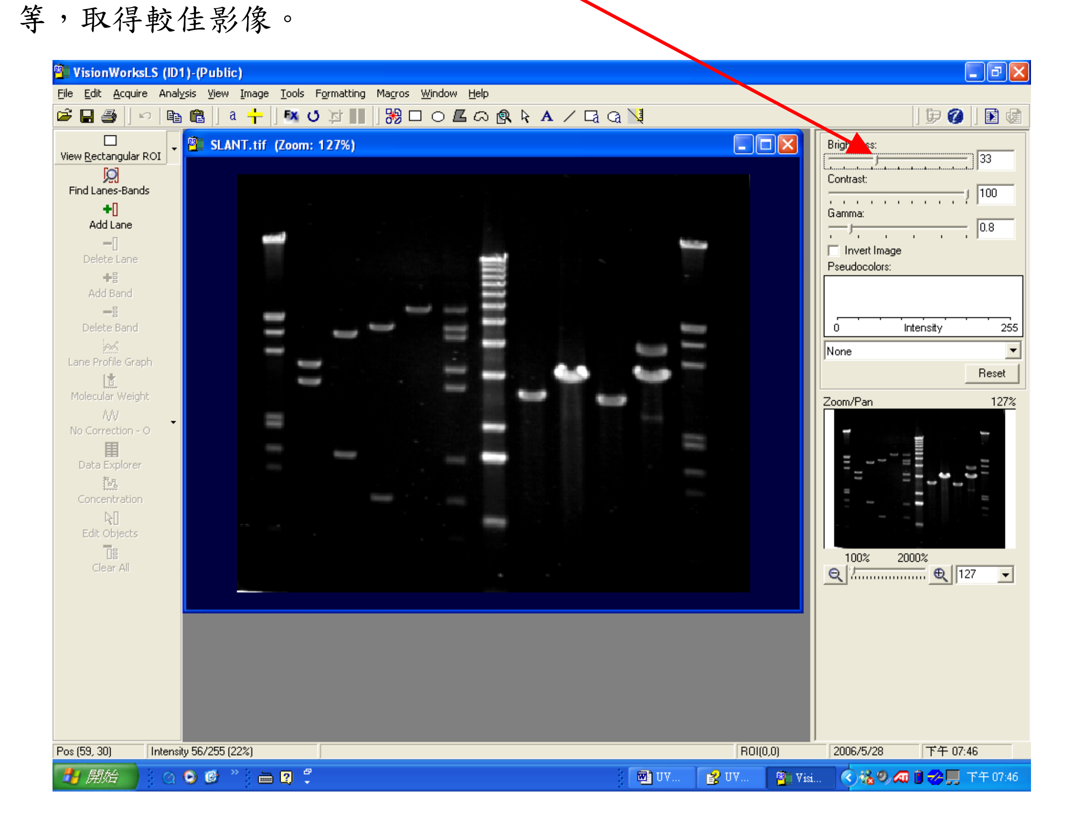


b.工作列點選”File”，再點選”Open”選擇欲編輯的影像檔，開啟影像檔案，如下圖。



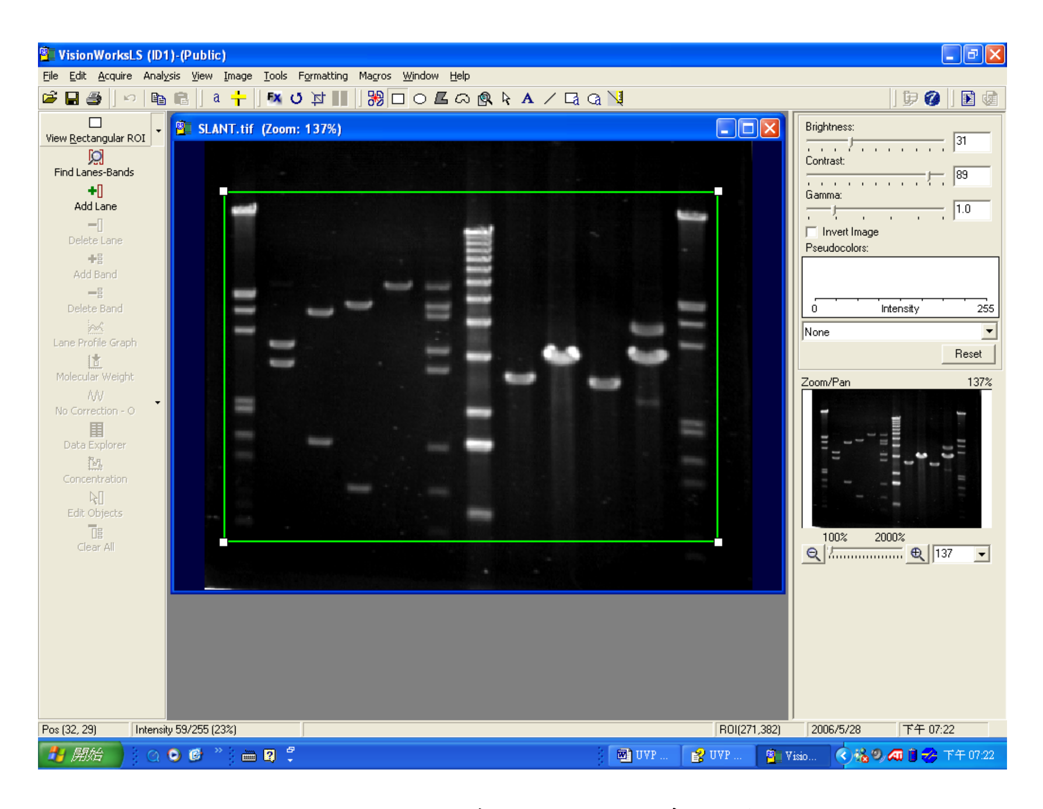
2.編輯影像

當開啟的影像若不是很清楚時，調整右邊 brightness、contrast、gamma or invert image 等，取得較佳影像。



3.1D-Gels Analysis 功能

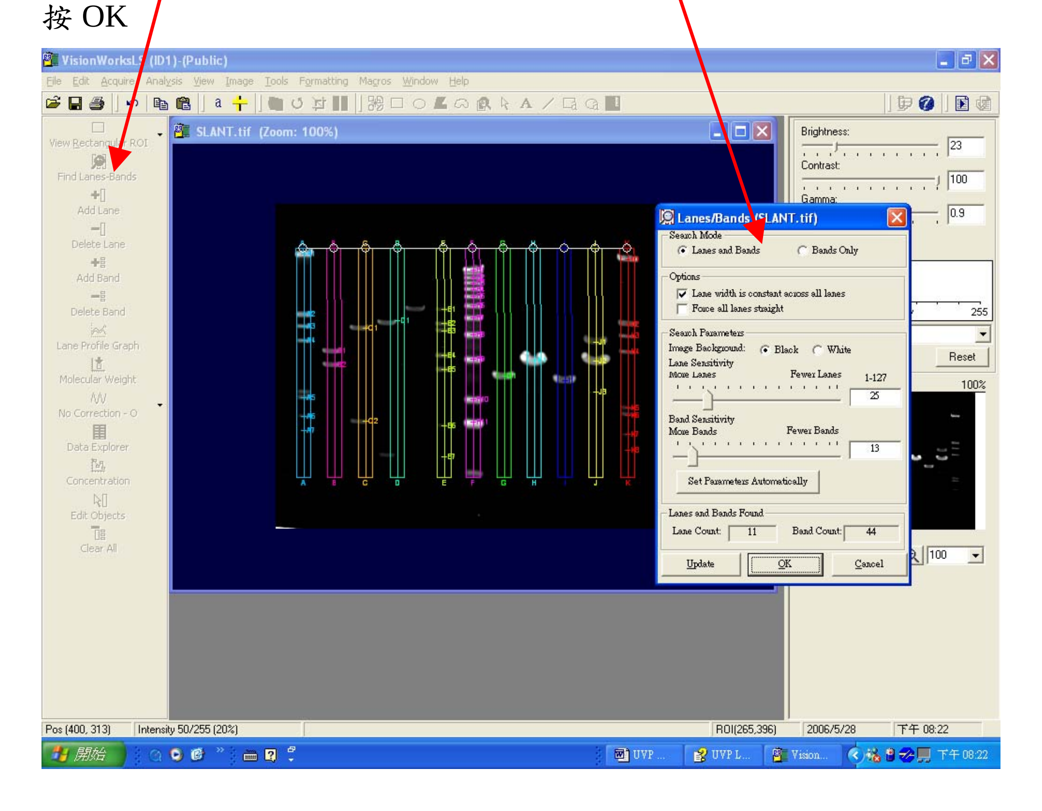
a. 選取分析範圍



b.鑑別與標示 Lanes and Bands

(1).Searching for Lanes and Bands

點選"Find Lanes-Bands"鈕，出現"Find Lanes/Bands"對話窗，可在 Search Mode 欄位選擇 Lanes and Bands or Bands only，可在 Options 欄位勾選 Lane width is constant across all lanes or Force all lines Straight；在 Search Parameters 欄位中 Image Background 點選 Black(反白圖點選 white)，試著移動 Lane Sensitivity and Band Sensitivity 鍵找出每個 Lanes and Bands，按 OK



(2)手動 Add lane、Delete lane、Add band、Delete band

i.Add lane

在左邊工具列按"Add Lanes"鈕，將游標移到影像上，選擇想要的 Lane 再按下滑鼠左鍵即可框住，重覆此動作可將所有想要的 Lane 框住，回到"Add Lanes"鈕再按一下。

ii.Delete lane

將滑鼠移動至欲刪除的 lane 上按下左鍵，到左邊工具列按"Delete Lanes"鈕即可刪除。

iii.Add band

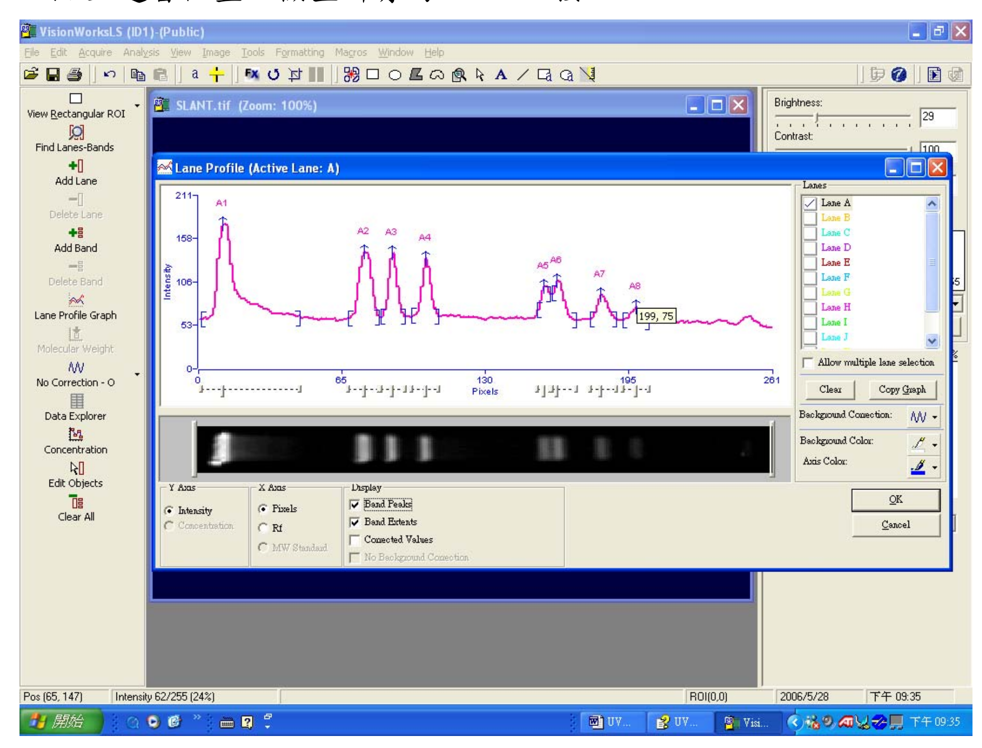
在左邊工具列按"Add Band"鈕，將游標移到影像上，選擇想要的 Band 再按下滑鼠左鍵即可標示，重覆此動作可將所有想要的 Band 標示，回到"Add Band"鈕再按一下。

iv.Delete band

將滑鼠移動至欲刪除的 Band 上按下左鍵，到左邊工具列按"Delete Lanes"鈕即可刪除。

(3)Lane Profile Graph

點選左邊” Lane Profile Graph”鈕，出現” Lane Profile”對話窗，勾選右邊 Lanes 欄位觀察欲分析的 Lane，勾選下方 Display 欄位中的 Band Peaks and Band Extentsc 後移動游標至座標下方定位點檢查是否框的正確，可將游標移到選取的定位點上按左鍵壓住一動定位點至適當位置，檢查所有的 Lanes，按 OK。



c.修正背景(Background)

點選左邊” No Correction ”鈕，在下拉式選單中勾選 Area Between Lanes ，畫面變成 Area Between Lanes 代表完成設定。

f.定義標準分子量（M.W. Standard）

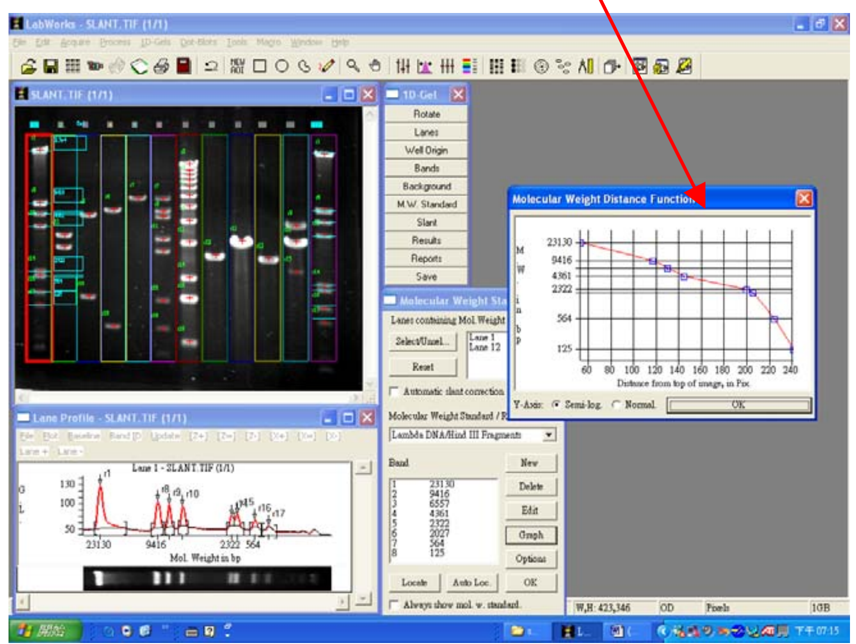
(1).點選 1D-Gels 工作平台中的”M. W. Standard”功能按鈕，出現” molecular weight standards”對話窗。

(2).Lane 1 通常預設為 Standard Lane，如有其他 Lane 是 Standard lane，則使用”select/unselect”鈕進入，增加到”lanes containing Mol. Weight standards”的清單中。

(3).從 Molecular Weight Standards/Rf 下拉式清單中選擇套用分子量標示，如不存在你想使用的分子量標示，選擇 None(Rf)。

(4)假如你選擇 None(Rf)，按”New”鈕進入”Create New Molecular Weight Standard”對話窗，輸入新的分子量標示；或是你選擇一個已存在的分子量標示，按”Edit”鈕進入”Edit Molecular Weight Standard”對話窗直接修改，按 OK 回到” molecular weight standards”對話窗。

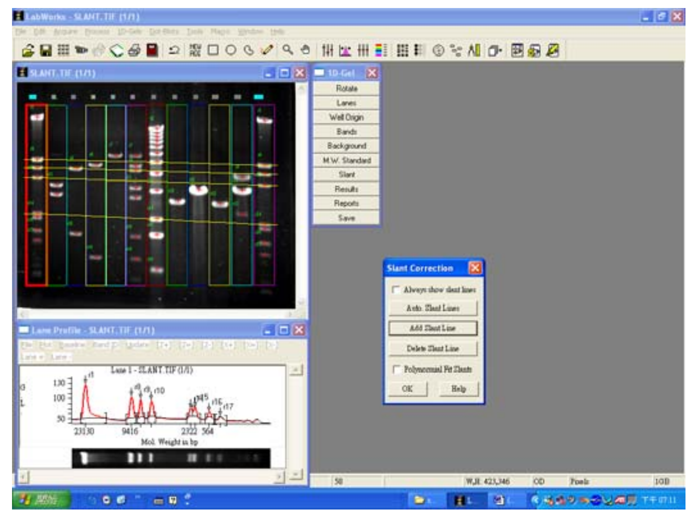
(5).按’”Graph”鈕，進入”Molecular Weight Distance Function 對話窗”，可見到一個 semi-log 線性標繪圖，顯示從膠片影像頂端不同分子量 bands 的距離，因為距離的移動是藉由一個 band 增加它分子量的指數函數，分子量的 vs 距離的 semi-log 標繪圖應該可能是線性。按 OK 回到” molecular weight standards”對話窗。



(6).按”Option”鈕，出現”M.W. Standard Options”對話窗，勾選 Match Band For Band，按 OK 回到” molecular weight standards”對話窗。

g.修正傾斜的影像（Slant）

(1).點選 1D-Gels 工作平台中的”Slant”鈕，出現”Slant Correction”對話窗，如下圖。



(2).按”Auto Slant Lines”鈕，會自動顯示畫出在相同分子量 BAND 的水平線，或是可按”Add Slant Line”鈕、”Delete Slant Line”鈕，以手動方式點選相同分子量的 BAND，畫出每一條修正線，按 OK 回到” molecular weight standards”對話窗。

h.計算數值與分子量資料(Results)

(1).點選 1D-Gels 工作平台中的”Results”鈕，出現”Amounts/Mol. Weights”對話窗，在工具列點選 show，勾選 Mol. Weights，如下圖。

LabWorks - SLANT.TIF (1/1)

Amounts/Mol.Weights - SLANT.TIF (1/1)

File Show Loads Calibrate Update

Amount or IOD
✓ Molecular Weight
Both
Match
Row Band Graph...
Band ID Options...
Bands/Lanes Labels...

Rel/bands ⦿ Amounts ◯ Rel.ab. ◯ % ◯ IOD ◯ max.OD

Row			Lane 3 (mol.w.)	Lane 4 (mol.w.)	Lane 5 (mol.w.)	Lane 6 (mol.w.)	Lane 7 (mol.w.)	Lane 8 (mol.w.)	Lane 9 (mol.w.)	Lane 10 (mol.w.)	Lane 11 (mol.w.)	Lane 12 (mol.w.)
r1												22489
r2							18737					
r3							16983					
r4							15610					
r5							14349					
r6							12824					
r7					10684	10535	11302					
r8	9416			7968		7968	9416					9416
r9	6557		6557			6557	6043				5724	6557
r10	4361											4361
r11		3889				3889	3757		3889		3934	
r12		3312				3275		3200		3164		
r13											2695	
r14	2322						2322					2322
r15	2027											1895
r16	564		387			387	564					425
r17	125											78
r18				16		16						
r19							4					

(2).在這對話窗顯示的數值計算包括分子量及下列任一種

i.Band 的質量可用%、相對豐富度(relative abundance)、或質量單位(amount unit)來表示。

ii.Absolute Integrated Optical Density(IOD):在 lane profile 的 Band 的容量。

iii.Maximum IOD: 在 lane profile 的 Band 的高度。

(3).數值表能被格式化經三個方式

i.Compacted: 在 lane 上出現的每一個 band 依照順序被列出，band 顯示在數值表的相同列，不須分享相似分子量。

ii.In rows of similar molecular weight: 在相似分子量的列 band 被群組化，在一個群組介於分子量之間的最大偏差預設值為 3%。

iii.In rows of similar Rf: 在相似 Rf 的列 band 被群組化，在一個群組介於 Rf 之間的最大偏差預設值為 3%。

(4).每個 Band 的數量(amount)是被計算成相對應的數量(quantity)，LabWorks 假設使用者已知道數量(quantity)，不同的方法如下：

i 裝載在 lane 上數量(amount)的比例，如果是 80ng 被裝載，Band 的容量是 lane 的總容量的 15%，這數量(amount)將是 80x0.15=12ng。

ii.使用其中一條 lane 當作參考，在 lane 上 bands 的數量被計算方式如同 1，在其他 lanes 上每一個 band 被比較到參考 lane 上相似分子量的 band，如果數值表是 Compacted 格式，這選項不提供。

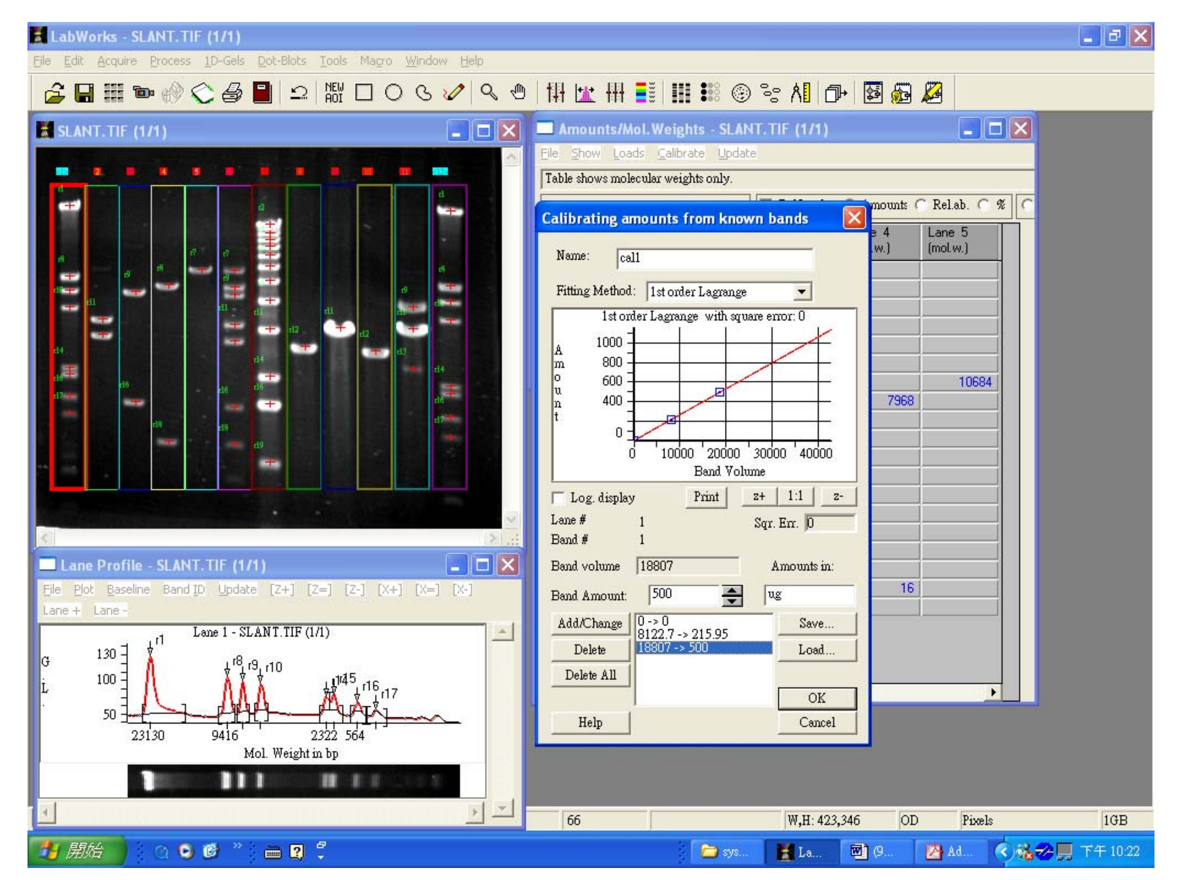
iii.使用其中一行(rows)當作參考，在 row 上 bands 的數量被計算方式如同 1，在其他 rows 上每一個 band 被比較到在相同 lane 上的對照 band，如果數值表是 Compacted 格式，這選項不提供。

iv.使用其中一個 band 當作參考，bands 的數量被計算方式如同 1，所有其他 bands 被比較到對照的 band，如果數值表是 Compacted 格式，這選項不提供。

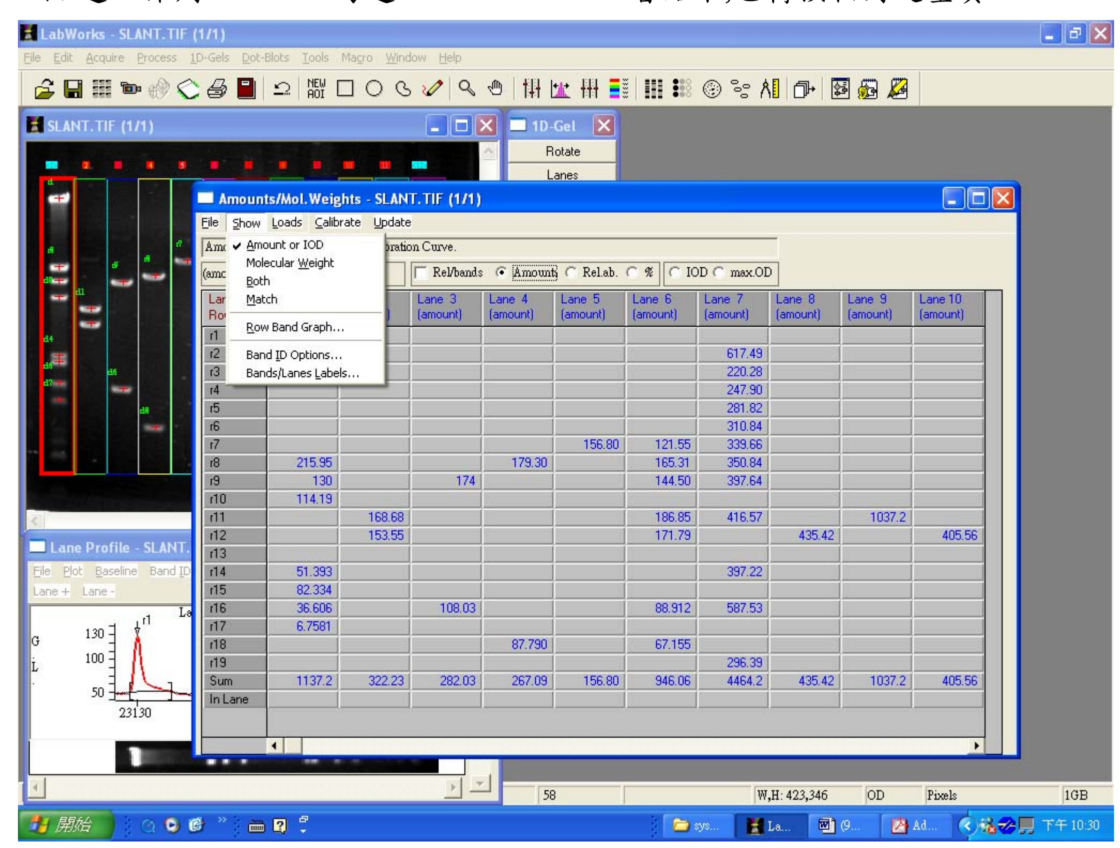
v.使用”standard calibration curve”，校正曲線可藉由兩個或更多的已知數量的 bands 來定義，以及在 band volume 和 band amount 間建立關聯性，要”create”或”edit”這個”standard calibration curve”，從數值表的選單中選”Calibrate”。

(5).定義質量校正曲線(Define mass Calibrate Curve)

i 如果你已知道某些 bands 的量，可在”Amounts/Mol. Weights”對話窗工作列點選”Calibrate”，再選擇”standard calibration curve”，出現” Calibrating amount from known bands”對話窗，先在 Name 欄位輸入名稱，在 Fitting Method 下拉選單選”1st order Lagrange”，將游標移到已知 band 上，對話窗 band volume 欄位會顯現數值，可在 band amount 欄位輸入已知的量，並在填入適當的單位(如 ng,ug…等)，重複上述動作將所有已知 band 的量輸入後按”save”鈕，再按”OK”回到”Amounts/Mol. Weights”對話窗。



ii.點選工作列"show"，勾選"Amount or IOD"看結果,已轉換相對定量質。



iii.工作列點選"Show"，在下拉表單勾選"Both"，數值表可同時看到每一個 Band 的 Amounts 及 Mol. Weights，如下圖。

LabWorks - SLANT.TIF (1/1)

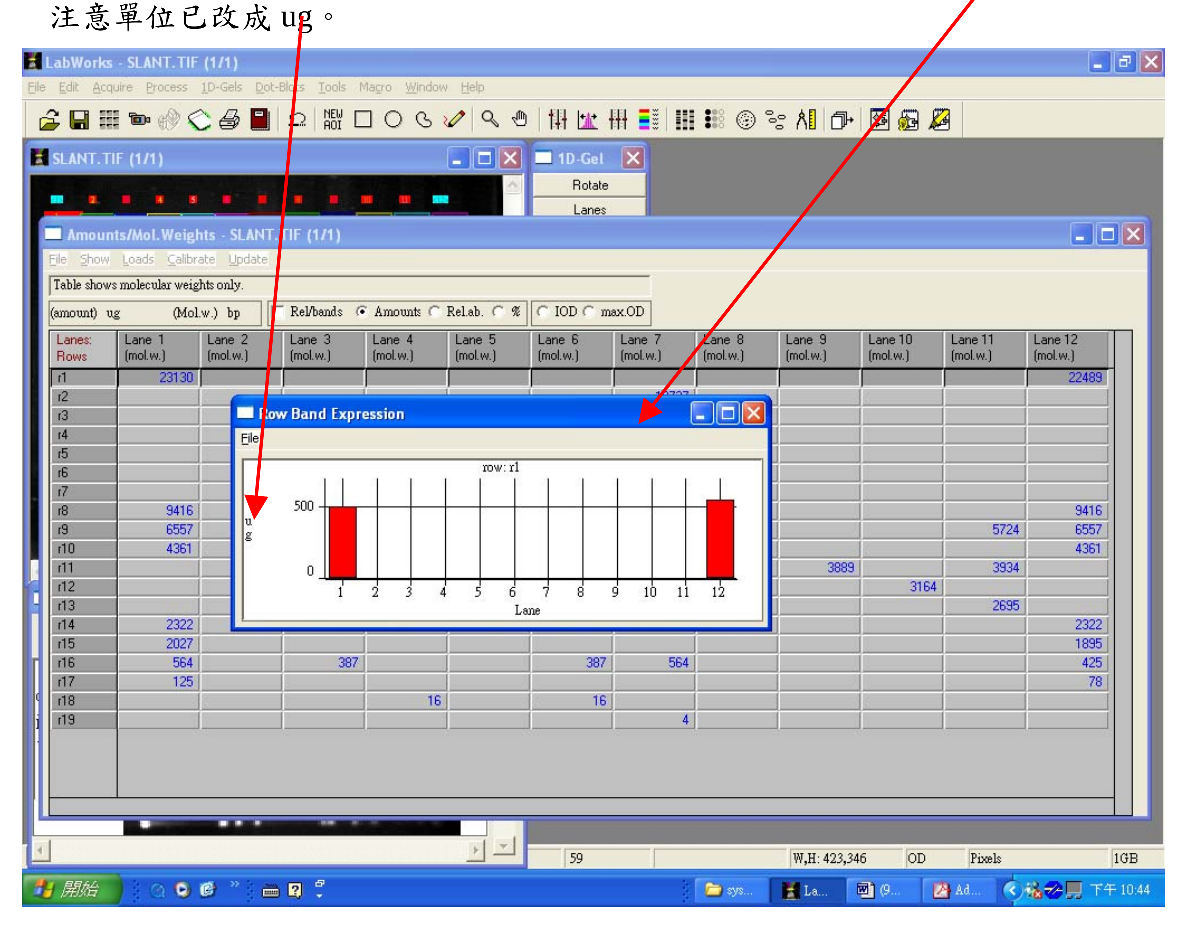
Amounts/Mol.Weights - SLANT.TIF (1/1)

Amount in each band using the Calibration Curve.

(amount) ug (Mol.w.) bp

Lanes: Rows	Lane 1 (mol.w.)	(amount)	Lane 2 (mol.w.)	(amount)	Lane 3 (mol.w.)	(amount)	Lane 4 (mol.w.)	(amount)	Lane 5 (mol.w.)	(amount)	Lane 6 (mol.w.)	(amount)	Lane 7 (mol.w.)	(amount)
r1	23130	500												
r2													18737	617.49
r3													16983	220.28
r4													15610	247.90
r5													14349	281.82
r6													12824	310.84
r7									10684	156.80	10535	121.55	11302	339.66
r8	9416	215.95					7968	179.30			7968	165.31	9416	350.84
r9	6557	130			6557	174					6557	144.50	6043	397.64
r10	4361	114.19												
r11			3889	168.68							3889	186.85	3757	416.57
r12			3312	153.55							3275	171.79		
r13														
r14	2322	51.393											2322	397.22
r15	2027	82.334												
r16	564	36.606			387	108.03					387	88.912	564	587.53
r17	125	6.7581												
r18							16	87.790			16	67.155		
r19													4	296.39
Sum		1137.2		322.23		282.03		267.09		156.80		946.06		4464.2
In Lane														

iv.在工具列點選 show，勾選 Mol. Weights，點選第一列，出現"Row band expression"對話窗，注意單位已改成 ug。



v.工作列點選”Show”，在下拉表單勾選”Match”，數值表會出現顏色標示，Green=Match、Red=Missing、Blue=Missmatch。

vi.工作列點選”Show”，在下拉表單勾選”Row Band Graph”，會出現”Row Band Expression”圖表，在數值表點選任一列皆會出現。

vii.使用其他數值計算方式，工作列點選”Calibrate”，點選”Ratio to Band/Lane，出現”Amounts Calibration Option”對話窗可勾選不同計算方式。

viii.如果你希望看到結果是”Amount”、”%”、”Relative abundance(Rel. ab)，在數值表中勾選即可。

ix. 工作列點選”File”，再點選”Data to file”存檔，或是點選”DDE to Excel”轉成 Excel 格式。

i.自動報告產生(Report)

1.點選 1D-Gels 工作平台中的”Report”鈕，出現”Report Generator”對話窗，如上圖。

2.工作列點選”File”，再點選”New”，出現”New Report”對話窗，選擇”Template.tpl”按”OK”。

3.工作列點選”Layout”，再點選”Update Data”，按列印鈕列印報告。

j.存檔(Save)

A、以 1D 分析分子量與量

1. 啟動 Visionwork。(需設定使用者及其權限) → 打開影像檔。

2. 點選 Analysis 下拉選單中，點選 1D analysis→ 右拉選單中點選 View 1D analysis toolbar

3. 調整影像角度。點選 →出現 rotate 對話方塊→點選 align → 按住滑鼠左鍵不放，移動滑鼠使箭頭方向與 lane 方向平行→ 按 OK。

4. lane 與 Band 之自動搜尋：點選 Find Lanes-Bands →出現 Lanes/Bands 對話方塊。

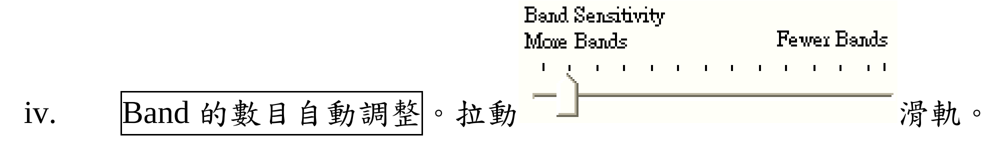
   i. lane 的數目自動調整。拉動 Lane Sensitivity More Lanes Fewer Lanes 1-127 59 滑軌。

   ii. 調整 lane 長度與寬度

   - 寬度統一調整 → Options 之 Lane width is constant across all lanes 需打勾。
   - 寬度各別調整 → Options 之 Lane width is constant across all lanes 需空白。

   iii. 在 Search Mode 中，點選 Bands only。

   iv. Band 的數目自動調整。拉動 滑軌。



   v. 按 OK 關閉視窗。

5. lane 的數目手動調整。點選 Add Lane →滑鼠移至影像視窗之 lane 時會出現條狀框框→點滑鼠左鍵確定→最後點選 Add Lane 停止該功能。(可用 Delete Lane 去掉 lane。)

6. Band 的數目手動調整。點選 Add Band →滑鼠移到欲增加 band 的位置，點滑鼠左鍵確定。(以滑鼠點選 Band 後按右鍵刪除。)

7. Band 拖尾區域調整。點選 Lane Profile Graph → 出現 lane profile 對話方塊。
   - 對話方塊之右方 lanes，勾選欲調整 band 之 land。
   - 對話方塊之下方 Display 內，將 Band Extent 打勾。(並將 Band peaks 空白)
   - 調整 Profile 之下方之節點位置。

8. 背景校正。點選 No Correction，下拉選單點選 Area Between Lanes，畫面變成 Area Between Lanes。
   - 打勾 Between lanes Background Correction 可見到該線在 Profile 之線。
   - 打勾 Corrceted Values 可看到扣掉背景後之 Profile。

9. 設定 Marker。以滑鼠左鍵點一下 Marker lane 後→ 點選 Molecular Weight → 選擇 marker（若無則選擇 Add 新增）→ 按下方 → 點一下 Auto Tag Bands→ 按 OK。

10. 計算 Band 的量：點選 Concentration，出現 Calibrate Intensity 視窗。以滑鼠點選知道量之 Band→ 在 Calculated Values 輸入數值。按 OK。

11. 結果輸出。點選 Data Explorer
   - 點選 Bands：I-Vol 面積亮度積分值。
   - 點選 Concentration： Bands 之計算數值。
   - Molecular Weight：DNA 分子量

12. 輸出至 Excel：點選 Export → 點選 to Excel → 點選 Export Data。

B、以 Area Density 分析量

1. 啟動 Visionwork。(需設定使用者及其權限)→ 打開影像檔。

2. 點選 Analysis 下拉選單中，點選 Area density → 右拉選單中點選 View Area density toolbar

3. 點選 Start area density ，出現 area density tool 對話方塊。

● 點選 Intensity Calib…→ 出現 Calibrate Intensity 對話方塊→點選 New→點選 OK。

➢ 若分析 DNA 膠片（Band 是白的，背景是黑的），需點選 Free form

➢ 若分析 Protein 膠片（Band 是黑的，背景是白的），需點選 Std. Optical Density。

4. 點選 Define reagion：點選□ ○ ◢ ⌓來選擇區域，選好後，單擊滑鼠右鍵確認。

若還要選另外區域，點選後，可重新選擇區域，選好後需以右鍵確認。最後再點選 OK。即可看到結果。

➢ 自動追蹤模式：點選。出現 Trace 或 Wand 兩種切換模式，

甲、 Trace：滑鼠點到 Bnad 時，會根據 Range 大小（愈小愈靈敏）來自動圈選區域。

乙、 Wand：以滑鼠自己劃區域。

5. 在『File』選單中，選『Date to Excel』轉換資料至 Excel 中